

### **3. Resultados**

#### **3.1. Estudio de la prevalencia de neurosífilis en pacientes con infección por VIH-1**

Nuestro estudio de prevalencia de la neurosífilis en la población de pacientes con infección por VIH-1 fue llevado a cabo desde el 1 de Enero de 1991 al 30 de Junio de 1994. Los aspectos demográficos de nuestra población con infección por VIH-1 son descritos en la tabla 10.

Cinco paciente adictos a drogas intravenosa tuvieron prueba RPR positivas y TPHA negativas. En estos cinco casos el RPR fueron considerados falsos positivo. Los títulos de RPRP fueron 1:1, 1:2, 1:2, 1:4 y 1:32. Dos de estos pacientes tuvieron chancros genitales tres a seis años antes del presente trabajo y recibieron tratamiento para sífilis. Otro dos pacientes recibieron tratamiento para sífilis aunque no hubo antecedentes de lesiones en genitales. El paciente restante negó tener lesiones sospechosa de sífilis en genitales, mucosas o piel.

En un total de 31 pacientes se confirmó el diagnóstico de sífilis basado en los resultados de las pruebas serológicas, representando un 3.1% de nuestra población de pacientes con infección por VIH. Por sexo y edad, 23 eran hombres con una edad media de 39 años  $\pm$  12; y 8 mujeres con una edad media de 28 años  $\pm$  4. Considerando los factores de riesgos para la infección por VIH, 13 pacientes fueron adictos a drogas por vía intravenosa, 14 homosexuales y 4 heterosexuales. En ninguno de estos pacientes se habían realizado examen del LCR ni habían recibido tratamiento para neurosífilis. La prueba de RPR fue positiva en 28 de los 31 pacientes con sífilis confirmada. En estos 28 pacientes, la media geométrica de los títulos de RPR fue 1:4,32 (1:1-1:32). El conteo de linfocitos CD4+ fue 487/mm<sup>3</sup> + 303. De acuerdo a la clasificación del CDC para la infección por VIH del CDC, 15 pacientes correspondieron al estadio A2, 6 B1, 8 B2, y 2 C3.

Tabla 10. Características demográficas de pacientes con infección por VIH y resultados de serología de la sífilis

Total de pacientes	972
Hombres	741
Mujeres	231
Factor de riesgo para la infección por VIH	
Addicción por vía intravenosa	714
Homosexualidad	77
Promiscuidad	134
Transfusión de hemoderivados	41
Desconocida	6
Serología positiva	
TPHA	31
RPR	36
RPR falsos positivos	5

La sífilis e infección por VIH fueron diagnosticadas simultáneamente en 19 pacientes (Grupo 1). Solamente tres de estos pacientes tenían chancros genitales correspondientes a sífilis primaria. En los restantes pacientes no se contó con los datos clínicos ni de laboratorios que permitieran diferenciar sífilis latente temprana o tardía. Ninguno de los pacientes del grupo 1 habían recibido tratamiento previo para la sífilis. Los títulos de RPR y conteo de los linfocitos CD4+ son descritos en la tabla 11.

En seis de los 31 pacientes con sífilis confirmada, la sífilis fue diagnosticada antes del diagnóstico de la infección por VIH (Grupo 2). Estos seis pacientes del grupo 2 habían recibido tratamientos para sífilis. Cuatro de estos seis pacientes tenían chancros genitales cuando fueron diagnosticados de sífilis. En los pacientes del grupo 2, la sífilis fue considerada como curada al momento del diagnóstico de la infección por VIH. Estos seis pacientes recibieron penicilina G benzatínica 2.400.000 unidades IM cada semana tres veces, dos a ocho años antes. Los títulos de RPR y los conteos de los linfocitos CD4+ son descritos en la tabla 11.

En los restantes seis pacientes, la sífilis fue diagnosticada después del diagnóstico de la infección por VIH (Grupo 3). El intervalo de tiempo desde el diagnóstico de la infección por VIH al de la sífilis fue de 5 meses a 5 años. Uno de estos pacientes tenía

serologia negativa previa y el diagnostico de sifilis se confirmo durante la investigacion de una cefalea persistente. En los restantes 5 pacientes, el diagnostico de sifilis fue realizado al momento de una primera evaluacion en nuestro centro, habiendose sido diagnosticados previamente en otro centro de infeccion por VIH. Ninguno de estos cinco pacientes contaba presentaron manifestaciones sospechosa de sifilis al momento del diagnostico de la misma. Los titulos de RPR y los contajes de linfocitos CD4+ son descritos en la tabla 11.

Tabla 11. Hallazgos clinicos y de laboratorio de los pacientes con sifilis e infeccion por VIH-1

Hallazgos clinicos y de laboratorio	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Total de pacientes	n = 19	n = 6	n = 6	n = 4
Sifilis primaria	3			
Sifilis latente	16	6	4	
Pacientes aparentemente curados		6		
Titulos de RPR	1:5,263	1:3,363	1:13,04	1:23,10
Contaje de linfocitos CD4+/mm <sup>3</sup>	530 ± 263		313 ± 214	368 ± 288
Pleocitosis	5	1	1	4

Grupo 1 = sifilis diagnosticada simultaneamente con infeccion por VIH / Grupo 2 = sifilis diagnosticada antes de la infeccion por VIH / Grupo 3 = sifilis diagnosticada despues de la infeccion por VIH

Una evaluacion completa del LCR fue realizada en 28 de los 31 pacientes. Dos pacientes del grupo 1 y uno del grupo 2 no tuvieron examen del LCR, dos de estos pacientes con sifilis latente del grupo 1 y 2. En dos pacientes con sifilis latente del grupo 1 y dos del grupo 3 fueron diagnosticados de neurosifilis basados en los resultados del estudio del LCR (tabla 12). La prevalencia de la sifilis y neurosifilis en nuestra poblacion con infeccion por VIH fue del 3.1% y 0.4% respectivamente. La prevalencia de neurosifilis en los pacientes con sifilis sin previo tratamiento fue del 23.5%.

De estos cuatro pacientes con neurosifilis, tres fueron ADVP y uno homosexual. Los datos demograficos, titulos de RPR, hallazgos del LCR y contaje de linfocitos CD4+ son descritos en la tabla 12. Tres de estos pacientes manifestaron cefalea persistente sin ningun otro sintoma de sifilis o neurosifilis. En estos pacientes se descartaron

enfermedades oportunistas basado en los resultados de ADA, antígeno criptococcico, tincion y cultivo para tuberculosis y citologia para neoplasia.

Tabla 12 Hallazgos de LCR en pacientes con neurosifilis

Grupo	Sexo	Titulo de RPR		LCR		Linfocitos CD4+		Infeccion por HIV
		Initial	Control	Initial	Control	Initial	Control	
1	Hombre	1:32	1:8	1:4	(-)	14	7	B1
1	Mujer	1:8	(-)	1:8	(-)	55	12	A2
3	Mujer	1:32	1:4	1:8	(-)	24	16	B1
3	Mujer	1:32	1:4	1:4		16		A2

<sup>a</sup>Linfocitos CD4+/mm<sup>3</sup> <sup>b</sup>Clasificación de la infección por VIH según del CDC (111)

Pleocitosis fue documentada en otros 7 pacientes además de los pacientes diagnosticados de neurosifilis. En estos 7 pacientes, la media de leucocitos en LCR fue  $11/\text{mm}^3 \pm 6$ . Cinco de estos 7 pacientes pertenecían al grupo 1, uno al grupo 2 y el restante al grupo 3. La media del conteo de linfocitos CD4+ fue  $528 \text{ mm}^3 \pm 198$  y la media geométrica del título de RPR fue de 1:2,70, con un rango de 1:1 – 1:32. Estos pacientes fueron seguidos por un tiempo medio de 13.5 meses y ninguno mostró manifestaciones clínicas de neurosifilis.

Todos los pacientes con neurosifilis fueron tratados con penicilina G 24.000.000 unidades IV por día, por un total de 14 días. Durante el seguimiento, los pacientes con cefalea persistente refirieron desaparición de las mismas después del tratamiento. En tres de estos pacientes se confirmó disminución de la pleocitosis y negativización del VDRL uno a dos años después del tratamiento. El cuarto paciente se negó a una re-evaluación del LCR. Ninguno de los cuatro pacientes mostró manifestaciones clínicas de neurosifilis después del tratamiento. Todos los pacientes con neurosifilis tuvieron los títulos de RPR mayores de 1:8. No hubo diferencias significativas de los títulos de RPR entre los pacientes con y sin neurosifilis. Sin embargo, los títulos de RPR de los pacientes con neurosifilis fueron significativamente más altos comparados con los pacientes del grupo 2 y aquellos con pleocitosis  $p = 0.046$  y  $p = 0.036$  respectivamente. Los pacientes con pleocitosis y VDRL negativos tuvieron títulos de RPR mayores que los pacientes sin

pleocitosis  $p=0.023$ . No hubo diferencia significativa de la media de los linfocitos CD4+ entre los pacientes con y sin neurosífilis  $p = 0.05$ .

### 3.2. Evaluación de la eficacia del tratamiento de la sífilis

#### 3.2.a. Evaluación inicial

Trece pacientes con infección por VIH contaron con los criterios de inclusión en el presente estudio, esto es diagnóstico de sífilis concomitante o posterior al diagnóstico de la infección por VIH. Los trece pacientes habían recibido tratamiento para sífilis antes del presente estudio. Cuatro de los pacientes fueron tratados con penicilina G 24.000.000 unidades IV por día por un total de 14 días. Tres de estos cuatro pacientes refirieron cefalea persistente y el diagnóstico de neurosífilis fue confirmado por la presencia de VDRL positiva en LCR. El cuarto paciente mostró pleocitosis con VDRL negativo. Los restantes 9 pacientes fueron considerados tener sífilis primaria o latente. Ocho de estos 9 pacientes fueron tratados con penicilina benzatínica 7.200.000 de unidades independientemente del estadio de la sífilis y el restante paciente recibió 2.400.000 unidades de penicilina procainica diaria por un total de 10 días. Las principales características clínicas y de laboratorio son descritas en la tabla 13.

Tabla 13. Hallazgos clínicos y de laboratorio de los pacientes durante la evaluación inicial

Pacientes	Estadio de la sífilis	RPR	LCR		==Infección por HIV	==Linfocitos CD4+
			=WBC	VDRL		
					A1	650
1	Primaria	1/32	ND	ND	A1	837
2	Primaria	1/16	3	0	A2	315
3	Primaria	1/8	ND	ND	A3	123
4	Primaria	1/16	ND	ND	A1	699
5	Latente	1/16	3	0	A1	480
6	Latente	1/32	1	0	C3	140
7	Latente	1/16	3	0	A1	615
8	Latente	1/32	2	0	A1	500
9	Latente	1/32	2	0	A1	1081
10	Neurosífilis	1/32	14	=	A1	1100
11	Neurosífilis	1/32	24	1/8	A1	1100
12	Neurosífilis	1/8	55	1/8	A2	481
13	Neurosífilis	1/64	16	0	B2	396

= WBC/mm<sup>3</sup> mm<sup>3</sup> == Clasificación de la infección por VIH según del CDC (111) == Linfocitos CD4+/mm<sup>3</sup>

#### 3.2.b. Detección del AND del *T pallidum* en LCR mediante la PCR

### 3.2.b.a. Sensibilidad de la PCR

La sensibilidad de nuestra tecnica de PCR fue determinada usando diluciones seriada del ADN cromosomico del *T pallidum*. En base al tamano promedio del cromosoma del *T pallidum*, aproximadamente 0.1 pg o el ADN equivalente de 10 treponemas fueron detectados por nuestra tecnica de amplificacion. Las muestras conteniendo *T pallidum* fueron diluidas en forma seriadas en solucion salina isotonica esteril conteniendo el numero deseado de espiroquetas. A continuacion, se realizo el procesamiento y amplificacion de las muestras en forma similar a la descrita anteriormente. Nuestra tecnica de PCR fue capaz de amplificar a partir de muestras conteniendo 10 microorganismos. Mayoritariamente se observo un producto de PCR de 658 pb por lo que se realizo dot blot no Southern blot (Figura 8)

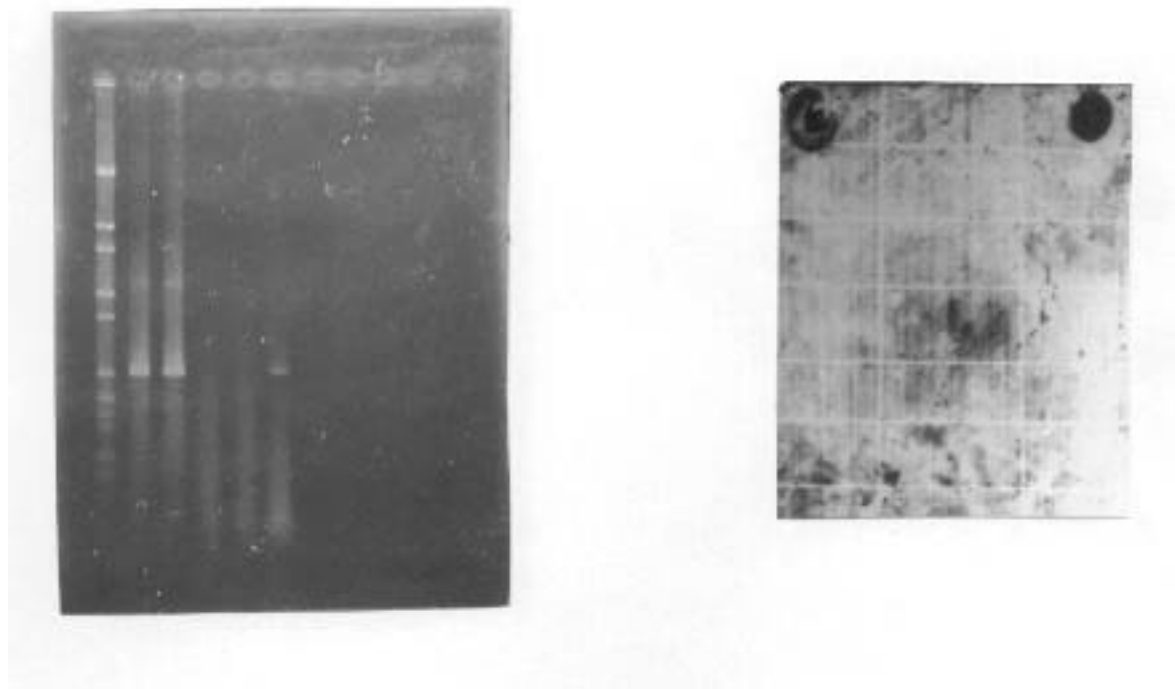


Figura 8. Electroforesis del AND amplificado con primers 47.1 y 47.2 en gel de agarosa tenido con bromuro de etidium. De izquierda a derecha, Fila 1: Pares de bases estandarizadas. Fila 2 y 3 controles positivos de AND de *T pallidum* (productos aplicados del pPH 47.2). Fila 4 y 5 correspondientes al LCR negativos para AND del *T pallidum*. Fila 6: *T pallidum*, cepas Nichols procesados por el metodo de centrifugacion lenta. Autoradiografia de la hibridacion dot blot de las muestras de LCR procesadas por PCR. En la parte superior, de izquierda a derecha: (1) pPH47.2, (2) no AND y (3) *T pallidum* liofilizado, cepas Nichols. En el medio corresponde a una muestra positiva

### 3.2.c. Prueba de Infectividad en Conejos (PIC)

En ninguno de los 13 conejos se apreciaron inflamacion testicular ni otros hallazgos que sugiera desarrollo de la enfermedad. Basado en nuestro protocolo, la serologia para sifilis (RPR y TPHA) y las biopsias de testiculos fueron realizadas a los tres meses de seguimiento (Figura 9). La prueba de inmunofluorescencia directa con anticuerpos conjugados con *T pallidum* realizadas en las muestras de biopsias fueron negativas en todos los conejos como mostradas en la Tabla 14.



Figura 9. Extirpacion de los testiculos de conejos previamente inoculados con LCR de pacientes con infeccion por VIH y serologia positiva para sifilis.

### 3.2.d. Seguimiento de los pacientes con infeccion por VIH-1 y sifilis.

Durante el seguimiento, los pacientes permanecieron asintomaticos, incluidos aquellos con diagnostico de neurosifilis. Sin embargo, tres anos despues del tratamiento y un ano despues del examen del LCR, el paciente 2 recibio nuevo tratamiento por una supuesta neurosifilis debido a la presencia de un incremento de los titulos de RPR y pleocitosis. Este paciente era un prostituto homosexual y no practicaba medidas de precaucion para la transmision de enfermedades sexuales. En este paciente los titulos de RPR disminuyeron cuatro veces del valor previo en los siguientes seis meses y el contaje de linfocitos CD4+ disminuyo de 439/mm<sup>3</sup> a 134/mm<sup>3</sup> durante el ultimo ano. El paciente 3 de las tablas 13 y 14 mostro un incremento de los titulos de RPR cinco anos despues del tratamiento para la sifilis y tres anos despues del examen del LCR para PCR. Este paciente rehusó un nuevo examen del LCR por lo que fue tratado con penicilina benzatinica IM 2.400.000 unidades. Los pacientes 7 y 10 murieron de aspergilosis pulmonar y tuberculosis

pulmonar respectivamente. Los pacientes 4,5,6,8,11,y 12 fueron seguidos por un tiempo medio de 2.8 años. Los títulos de RPR disminuyeron progresivamente en el paciente 8 y se negativizaron en los restantes pacientes. Desafortunadamente, los pacientes 1, 9, y 13 desaparecieron y el seguimiento no fue posible.

Tabla 14. Hallazgos clínicos y de laboratorio de los pacientes durante la última evaluación

Pacientes	RPR	LCR				Infección por HIV A1	Linfocitos CD4+
		WBC	VDRL	PCR	TIC		
1	0	0			ND	A1	410
2	—	3			0	A2	1057
3	0	2			ND	A3	340
4	1/8	3			ND	A1	300
5	1/8	4			0	A1	520
6	—	1			0	C3	298
7	0	3			0	A1	102
8	—	0			0	A1	320
9	1/8	5			0	A1	614
10	1/1	7			—	A1	439
11	—	7			1/8	A1	1020
12	0	4			1/8	A2	84
13	0	0			0	B2	30

<sup>WBC/mm<sup>3</sup></sup> = mm<sup>3</sup> <sup>Clasificación de la infección por VIH según del CDC (111)</sup> <sup>Linfocitos CD4+/mm<sup>3</sup></sup>

#### 4. Discusión

##### 4.1. Estudio de la prevalencia de la neurosífilis en pacientes con infección por VIH-1

En el estudio de la sífilis contamos con un gran conocimiento de la patogenia aunque no lo suficiente para explicar ciertos fenómenos relacionados al tropismo y virulencia del *T pallidum* a nivel del CNS. Actualmente, no contamos con los datos suficientes para explicar la precoz invasión del CNS por el *T pallidum* así como el grado de inmunopatogenicidad que conlleva al desarrollo de la enfermedad o latencia de la enfermedad. Las variaciones de las pruebas treponémicas y no treponémicas durante el diagnóstico y posterior al tratamiento reflejarían los mecanismos inmunológicos y peculiar interacción del *T pallidum*. A pesar de la variable sensibilidad y especificidad de la serología en el diagnóstico, esta permanece como la técnica diagnóstica estandarizada de la sífilis (1,2,5,8,11). Las limitaciones del diagnóstico serológico se incrementan en los pacientes con infecciones por VIH debido a las alteraciones inmunológicas propias de la



infeccion por el VIH (5,8,10,11). Estas anormalidades inmunologicas potencialmente afectan los resultados falsos positivos, sensibilidad y especificidad de las serologicas de la sifilis, asi como la evaluacion del tratamiento. En nuestro estudio de la prevalncia de la neurosifilis, encontramos cinco pacientes con RPR falsos positivos representando 0.51% del total de la nuestra poblacion. Muy probablemente dos de estos pacientes tuvieron chancros genitales por lo que no podemos descartar la probabilidad de sifilis. Nuestro estudio demostro una frecuencia de la serologia falsa positiva mucho menor que otros trabajos (59, 60, 67, 68). Cabe destacar que todos nuestros pacientes con serologias falsas positivas de la sifilis fueron adictos por via intravenosa. Resultados falsos positivos de la serologias de la sifilis es un hallazgo frecuente en adictos por via intravenosa (68), aunque otros autores no hallaron esta asociacion (67,119). En los casos de serologias falsas positivas, los titulos fueron bajos y transitorios (119) similares a los a las descritas en nuestros pacientes. Dado la baja prevalencia de la serologia falsa positiva en nuestra poblacion de pacientes con infeccion por VIH, nosotros consideramos la serologia RPR como una prueba valida para el screening de la sifilis.

Un total de cuatro estudio de la prevalencia de la sifilis en pacientes con infeccion por VIH-1 fueron realizados en paises occidentales (67-68,119). La prevalencia de la sifilis en estos estudios oscilo 4,9 a 43.9%. Brandon y colaboradores hallaron una prevalencia del 32% en pacientes con infeccion por VIH, mucho de ellos homosexuales (67). Este estudio cuenta con el sesgo de realizarse en una clinica de Enfermedades de Transmision Sexual. En nuestra poblacion de pacientes con infeccion por VIH-1, la prevalencia de la sifilis fue de 3,1% incluyendo aquellos con y sin previo tratamientos para la sifilis. La prevalencia de la sifilis en nuetro estudio fue menor que en otros estudios descritos (67-69,119). La menor prevalencia de sifilis en nuestra poblacion con infeccion podria ser atribuible al menor porcentaje de pacientes homosexuales en nuestra poblacion de pacientes con infeccion por VIH-1. Aunque las precauciones del sexo seguro disminuyen la incidencia de sifilis en homosexuales, la prevalencia de sifilis en nuestra poblacion de pacientes homosexuales fue mayor. Una prevalencia similar de sifilis en homosexuales fue descrita en un trabajo realizado en nuestro pais (119). En vista a la alta prevalencia de la sifilis en los pacientes

con infección por VIH-1 y considerando la sífilis como un factor de riesgo para la transmisión del VIH, la serología de la sífilis es recomendada en la población de pacientes con infección por VIH y la prueba de VIH en los pacientes con sífilis.

La presencia de *T pallidum* en el LCR fue descrita en todos los estadios de la sífilis (2-4,10,39) independientemente del resultado de la VDRL (10). Además, es reconocido que la penicilina G benzatínica no alcanza los niveles bactericidas en LCR (110,39). En seis de nuestros pacientes del grupo dos quienes habían sido tratados con penicilina G benzatínica no desarrollaron neurosífilis. Hallazgos similares fueron descritos en pacientes con sífilis sin infección por VIH (1,39). La eficacia de la penicilina jugaría un rol muy importante en la prevención de la neurosífilis si comparamos los pacientes de nuestro estudio del grupo 2 con aquellos del grupo 3 quienes adquirieron la sífilis concomitantemente o posterior a la infección por VIH.

La prevalencia de la neurosífilis en los pacientes con infección por VIH es mayor que en los pacientes sin infección por VIH (1,2,5). En nuestro estudio, cuatro (23.5%) de nuestros pacientes con sífilis no tratadas fueron diagnosticados de neurosífilis, tres de ellos basados en VDRL positivo en LCR y el cuarto debido a los hallazgos clínicos, serológicos y pleocitosis. En nuestro estudio, ningún paciente presentó las manifestaciones clínicas atípicas o floridas de neurosífilis descritas en otros trabajos (1,39,50,53,62,63). Sin embargo, nuestro estudio demostró una mayor prevalencia de neurosífilis que los descritos por Holtom y colaboradores (9.1%) (68) o Brandon y colaboradores (3.9%), (67), lo cual podría ser atribuible a la sistemática realización del examen del LCR en nuestra población de pacientes con infección por VIH y sífilis. Esta evidencia sugiere que el examen de LCR debe ser realizado en todos los pacientes con infección por VIH y sífilis. Altos títulos de RPR fueron descritos en pacientes con infección por VIH y neurosífilis (51,57). En nuestro estudio, todos los pacientes con neurosífilis tuvieron títulos de RPR mayor a 1:8. Basado en estos resultados, la neurosífilis debe ser considerada en pacientes con altos títulos de RPR.

Las anomalías inmunológicas ocasionadas por VIH facilitarían la invasión y persistencia del *T pallidum* en CNS (1,4,39). Actualmente, contamos con limitaciones en la valoración del grado de anomalías inmunológicas o inmunosupresión en los pacientes con infección por VIH. Los datos disponibles indican que no existe correlación entre la incidencia de neurosífilis y el bajo conteo de CD4+ (45, 57,71). En nuestro trabajo, los pacientes con VDRL positiva en LCR presentaron una media del conteo de linfocitos CD4+ superior a 200 mm<sup>3</sup>. Otros factores diferentes al bajo conteo de linfocitos CD4+ o inmunosupresión estarían involucrados en la invasión del SNC por el *T pallidum*.

En pacientes sin infección por VIH, la presencia de sífilis latente asociada a pleocitosis es evidencia suficiente para el diagnóstico presuntivo de neurosífilis (11). Nuestros pacientes con neurosífilis mostraron un conteo de leucocitos en LCR significativamente elevada ( $p < 0.032$ ), sin embargo, este hallazgo estuvo también presente en siete pacientes con VDRL negativo en LCR. La pleocitosis puede ser causada por diferentes etiologías incluyendo el propio VIH. Los pacientes con infección por VIH con serología positiva para sífilis y pleocitosis debe ser considerada como neurosífilis y ser tratada como tal, como también descrita por otros de autores (41, 112). En nuestro estudio, los pacientes con neurosífilis presentaron una negativización de VDRL en LCR y disminución de la pleocitosis. Debido a la baja sensibilidad de la prueba VDRL en LCR (1, 39), no podemos descartar neurosífilis en los pacientes con VDRL negativo en LCR.

#### **4.2. Evaluación del tratamiento de a sífilis en pacientes con infección por VIH**

Numerosos autores describieron fracasos del tratamiento estandarizado de la sífilis en pacientes con infección por VIH. Johns y colaboradores describieron dos pacientes con sífilis temprana previamente tratada con penicilina benzatínica y que posteriormente desarrollaron neurosífilis (53). Lukerhart y colaboradores confirmaron tres casos de neurosífilis en pacientes con sífilis secundaria previamente tratada con penicilina benzatínica, en dos de estos pacientes del diagnóstico de invasión del LCR comprobados únicamente por la prueba de infectividad en conejos (10). Gregory y colaboradores no encontraron neurosífilis en ningún paciente de su serie, sin embargo describieron la

presentacion atipica de sifilis en cinco pacientes, dos de los cuales habian sido tratados con penicilina benzatinica (50). Katz y Berger describieron un supuesto fracaso del tratamiento para la sifilis en cuatro pacientes de una serie de 12 casos con neurosifilis (54). Dos de estos cuatro pacientes fueron tratados con penicilina benzatinica 7.200.000 unidades (54). Berger describio tres casos de neurosifilis, dos de quienes habian recibidos tratamientos estandarizados para sifilis temprana 2 y 38 anos antes (56). De una serie de 46 pacientes hospitalizados con el diagnostico de neurosifilis, Katz y Berger describieron un supuesto fracaso del tratamiento para la sifilis en cuatro pacientes de una serie de 12 casos de neurosifilis (56). Gordon y colaboradores describieron 11 pacientes con neurosifilis sintemática, cinco de ellos habian sido previamente tratados con penicilina benzatinica (57). Posterior al tratamiento con penicilina intravenosas, 1 de los 11 pacientes fue diagnosticado tener neurosifilis considerado como recidiva. En dos de estos pacientes se observo un fracaso del tratamiento debido a la persistencia de los titulos de RPR y VDRL en LCR (57). Finalmente, Malone y colaboradores, describieron la recidiva de sifilis basados en hallazgos clinicos y de serologicos en 10 pacientes de una serie de 61 pacientes durante un seguimiento medio de 14.7 meses (rango 6 – 25) (58). En estos 10 pacientes, dos habian sido tratados con alta dosis de penicilina procainica mas probenecid; altas dosis de penicilina intravenosa en 5 y tres restantes con penicilina benzatinica (sifilis secundaria en dos y neuropatia craneal en un pacientes). En resumen, menos de 40 casos de recidiva de sifilis en pacientes con infeccion por VIH y antecedentes de previo tratamiento para la sifilis fueron descritos en la literatura. En muchos de estos pacientes no se describio si la infeccion por VIH precedio o fue posterior al tratamiento de la sifilis. Tambien, muchos de estos pacientes fueron tratados para la sifilis muchos anos antes de la recidiva (50,53,55,56). Durante tal extraordinariamente prolongado periodo de tiempo, no se podria descartar reinfeccion en estos pacientes. Dos de nuestros pacientes mostraron un incremento de los titulos de RPR anos despues de recibir tratamiento para la sifilis, este hallazgo fue considerado reinfeccion mas que recidiva. Muy posiblemente, algunos casos de la literatura considerados como recidiva fueron re infectados. Mas alla de la probabilidad de reinfeccion, estas supuestas recidivas serologicas podrian ser el resultado de anormalidades inmunologicas secundaria a la infeccion por VIH (59, 60). Nuestros

pacientes mostraron una respuesta serológica al tratamiento con penicilina similar a la que sería esperado en pacientes inmunocompetente como también fue descrito en los trabajos de Hutchinson y colaboradores (51) y Gourevitch y colaboradores (45).

Desafortunadamente, en muchos de estos trabajos no se describió los contejos de linfocitos CD4+. Malone y colaboradores describieron un contejo de linfocitos CD4+ promedio mayor a  $400/\text{mm}^3$  y no encontraron diferencia estadística significativa en los contejos de linfocitos CD4+ entre los pacientes con y sin recidiva de sífilis (58). De los restantes trabajos, solamente Berger y colaboradores (55) y Gordon y colaboradores (57) describieron el contejo de linfocitos CD4+ al momento de la recidiva de la sífilis pero no cuando fueron tratados por primera vez. Nuestros pacientes mostraron un contejo de linfocitos CD4+ relativamente estable promedio mayor a  $200/\text{mm}^3$ . En nuestro estudio, excepto en dos de nuestros pacientes, los restantes pacientes tenían un los contejos de linfocitos CD4+ mayor a mayor a  $200/\text{mm}^3$  cuando recibieron el primer tratamiento para sífilis. Presumiblemente, la respuesta al tratamiento de la sífilis en nuestro pacientes fue influenciada por una leve inmunosupresión. Una respuesta favorable al tratamiento para la sífilis en pacientes con infección por VIH fueron también descritos en la literatura (45,51) en pacientes con contejo de los linfocitos CD4+ similar a la de nuestro pacientes (45,51). Un contejo de linfocitos CD4+ menor a  $200/\text{mm}^3$  fueron descritos en unos pocos pacientes de estas series, 4 de 52 pacientes por Hutchinson y colaboradores (51) y 6 de 24 casos evaluados por Gourevitch y colaboradores (45).

#### **4.2.a. Evaluación de la PCR en la detección del ADN del *T pallidum* en LCR de pacientes con infección por VIH**

Previos trabajos evaluaron el tratamiento de la sífilis sin realizar el examen del LCR (51, 64), o realizaron un examen del LCR limitado al contejo de leucocitos y VDRL (70). Para superar estas dificultades, nosotros realizamos una evaluación sistemática del LCR por tres diferentes métodos, VDRL, PCR para *T pallidum* y la prueba de infectividad en conejos. En teoría, la PCR sería una técnica eficaz para detectar el ADN del *T pallidum* en LCR. Sin embargo, los resultados de la PCR en el diagnóstico de la neurosífilis fueron

controvertidos. Por otro lado, la PCR fue muy efectiva en el diagnóstico de la neurosífilis congénita mostrando una gran correlación con el prueba de infectividad en conejos (110). Gordon y colaboradores (357) y Noordhoek y colaboradores (109) describieron una baja sensibilidad, así como casos con resultados de VDRL en LCR positivos y PCR negativos. En nuestro trabajo, los resultados de PCR negativo se correlacionaron con los resultados de VDRL en LCR. Noordhoek y colaboradores (109) describieron resultados de PCR negativos en casos de sífilis no tratados que se positivizaron después del tratamiento. Estos hallazgos no estuvieron presentes en nuestro trabajo. Más estudios de la PCR en la evaluación de la presencia del *T pallidum* en LCR son necesario para evaluar su utilidad en el diagnóstico y evaluación del tratamiento de la sífilis.

#### **4.2.b. Evaluación del Prueba de Infectividad en Conejos**

La prueba de infectividad en conejos es considerada como la prueba de referencia para el diagnóstico de la neurosífilis (8). Similar a otros investigadores, nosotros usamos muestras de LCR congeladas (70). Los resultados de la prueba de infectividad en conejos en nuestro trabajo fueron negativos y se correlacionaron con los hallazgos clínicos, resultados serológicos y PCR presentes en todos nuestros pacientes.

## **5. Conclusion**

### **5.1 Prevalencia de la neurosifilis en los pacientes con infeccion por VIH**

- i) En nuestra poblacion de pacientes con infeccion por VIH, la prevalencia de la sifilis fue de 3.1%. Un 45.1% de los pacientes con sifilis fueron homosexuales.
- ii) La prevalencia de neurosifilis fue de 0.4% en el total de nuestros pacientes con serologia positiva para sifilis, y de 23.5% en los pacientes sin previo tratamiento para la sifilis. Ningun paciente presento manifestaciones neurologicas otra que cefalea. Los titulos de RPR fueron mayores en los pacientes con neurosifilis (0.046), No hubo diferencias significativas del contaje de los linfocitos CD4+ entre los pacientes con y sin neurosifilis.
- iii) La significativa prevalencia de neurosifilis asintomatica sugiere la necesidad de realizar evaluacion del LCR en todos los pacientes con infeccion por VIH-1 y sifilis independientemente del estadio de la sifilis.

### **5.2. Evaluacion del tratamiento de la sifilis mediante la PCR y la prueba de infectividad en conejos**

- iv) Todos nuestros pacientes tuvieron una respuesta favorable al tratamiento con penicilina. La minima inmunodepresion en nuestros pacientes con infeccion por VIH-1 podria haber influenciado la respuesta al tratamiento.
- v) En nuestra experiencia, la PCR mostro ser una tecnica efectiva en la valoracion del tratamiento de la sifilis en pacientes con infeccion por VIH-1. Los resultados de la PCR se correlacionaron con aquellos de la VDRL en LCR y la prueba de infectividad en conejos.
- vi) Otros factores diferentes a la eficacia de la penicilina podrian explicar los casos de recidiva de neurosifilis descritos en la literatura.

## 6. Bibliografia

1. Hook E and Marra C. Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992;326:1060-9
2. Tramont DE. *Treponema pallidum* (Syphilis). In: Mandel J, Douglas, Bennett J. Dolin E, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone 1994; 2117-333
3. Johnson TW. The Syphilis. In: Paul D Hoeprich, ed. *Infectious Diseases*, 1<sup>st</sup> ed Maryland: Harper Row Publisher, 1972: 50, 539-55
4. Glestland T. The Oslo study of untreated syphilis based on a study of the Boeck-Bruusgaard material. *Acta Dermato-Venereologica* 1955; 35(34):1-365
5. Tramont EC. Syphilis in adults. From Cristopher Columbus to Sir alexander Fleming to AIDS. *CID* 1995; 21:1361-71
6. Syphilis. In Gwin RP, Norton PB, Goetz PW. *The New Encyclpeddy Britannica*, 15<sup>th</sup> Edition. Encyclopedia Britannica, Inc. Chicago. 1991; 11:466-7
7. Sparling PF and Baseman JB. The Spirochetes. In: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN and Grinsberg HS. *Microbiology*, 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia: Harper & Row Ed. 1980; 752-8
8. Larsen S. Laboratory diagnosis and interpretations of tests for syphilis. *Clin Microbiol* 1995; 8: 1-21
9. Magnuson HJ, Thomas EW, Olansky E, et al Inoculation syphilis in human volunteers. *Medicine (Baltimore)* 1956; 35:33-82
10. Lukehart S, Hook EW, Sharon A et al. Invasion of the Central Nervous System by *Treponema pallidum*: implications for diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1988; 109: 855-62
11. Musher D, Hamill RJ and Baughn RE. Effect of Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection on the course and on the response to treatment. *Ann Intern Med* 1990; 113:872-881
12. Moore JE, Hopkins HH. Asymptomatic neurosyphilis. *JAMA* 1930; 95:1637-41
13. Kennet GJ. Modern neurosyphilis. A critical analysis. *West J Med* 1988: 149:47-57
14. Davis LE, Schmitt JW. Clinical significance of cerebrospinal fluid tests for neurosyphilis. *Ann Neurol* 1989; 25:50-55



15. Luger A, Marhold I and Schmidt BL. Laboratory support in the diagnosis of neurosyphilis. WHO/VDT/RES/88.379
16. Prange HW, Moskophidis M, Schipper HI, Muller F. Relationship between neurological synthesis of IgG antibodies to *T pallidum* in untreated and treated human neurosyphilis. J Neurol 193; 241-252
17. Wolters EC, Hische EAH, Tutuarima JA et al. Central Nervous System involvement in early and late syphilis: the problem of asymptomatic neurosyphilis. J Neurol Scien 1988 88:229-39
18. Schmidt R. Neurosyphilis. Clin Neurol 1989; 2:1-23
19. Crissey JT, Deneholz DA. Development of the modern forms and concepts of syphilis. Clin Dermatol 1984; 2:1-10
20. Schroeter AL, Lucas JB, Price EV, Falcone VH. Treatment for early syphilis and reactivity of serologic tests. JAMA 1972; 222:471-7
21. Turner TB, Hardy PH, Newman B. Infectivity tests in syphilis. Brit J Vener Dis 1969; 45: 183-96
22. Cumberland MC, Turner TB. Rate of multiplication of *T pallidum* in normal and immune rabbits. Am J Syph 1949; 33:201
23. Norris SJ. Polypeptides of *T pallidum*: progress toward understanding their structural, functional and immunological roles. MicrobiolReviews 1993; 57:750-79
24. Pavia ChS, Folds JD, Baseman JB. Cell mediated immunity during syphilis. Brit J Ven Dis 1978; 54:144-51
25. Rockwell DH, Yobs AR, Moore MB. The Tuskegee study of untreated syphilis; the 30<sup>th</sup> years of observation. Arch Intern Med 1964; 14: 792
26. Radolf JD, Fehniger TE, Siverblatt, Miller JN, Lovet MA. The surface virulent *T. pallidum*: resistance to antibody binding in the absence of complement and surface association of recombinant antigen 4D. Infect immun 1986; 52: 579-85
27. Stamm LV, Bassford PJ Jr. cellular and extracellular protein antigens of *Treponema pallidum* synthesized during in vitro incubation of freshly extracted organisms. Infect Immun 1987; 47: 799-807

28. Radolf JD, Chamberlain NR, Clausell NR, Norgard MV. Identification and localization of integral membrane proteins of virulent *Treponema pallidum* subsp. *Pallidum* by phase partitioning with the nonionic detergent Triton X-114. *Infect Immun* 1988; 56:490-8
29. Radolf JD, Norgard MV, Schultz WW. Outer membrane ultrastructure explains the limited antigenicity of virulent *T. pallidum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:2051-5
30. Radolf JD, Steiner B, Shewchenko D. *Treponema pallidum*: doing a remarkable job with what it's got. *Trend Microbiol* 1999; 7(1) 7-9
31. Jones SA, Marchitto JN, Miller JN, Norgard MV. Monoclonal antibody with haemagglutination, immobilization and neutralization activities defines an immunodominant, 47000 mol wt., surfaced exposed immunogen of *T. pallidum* (Nichols). *J Exp Med* 1984; 160: 1404-20
32. Radolf JD, Arndt LL, Akins DR et al. *Treponema pallidum* and *Borrelia burgdoferi* lipoproteins and synthetic lipopeptides active monocytes/macrophages. *J Immunol* 1995; 154: 2866-77
33. Radolf JD, Norgard MV, Brandt ME, Isaacs RD, Thompson PA, Beutler B. Lipoproteins of *Borrelia burgdoferi* and *Treponema pallidum* activate cachectin/TNF synthesis. *J Immunol* 1991; 6:1968-74
34. Penn CW, Cockayne A, Bailey MJ. The outer membrane of *T pallidum*: biological significance and biochemical properties. *J Gen Microbiol* 1985; 131: 2349-57
35. Radolf JD, Robinson EJ, Bourel KW. Characterization of outer membranes isolated from *T. pallidum*, the syphilis spirochete. *Infect Immun* 1995; 63:4244-52
36. Hsu P-L, Chamberlain K, Orth K et al. Sequence analysis of the 47-Kilodalton major integral membrane immunogen of *T. pallidum*. *Infect Immun* 1989; 57:196-203
37. Radolf JD, Norgard MV, Brandt ME, Isaacs RD, Thompson PA, Beutler B. Lipoproteins of *Borrelia burgdoferi* and *Treponema pallidum* activate cachectin/TNF synthesis. *J Immunol* 1991; 6:1968-74
38. Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kiloDalton surface immunogen of *T pallidum*. *Infect Immun* 1986; 54:500-6

39. Musher DM. Syphilis, Neurosyphilis, Penicilin and AIDS. *CID* 1991; 163:1201-6
40. Simon RP. Neurosyphilis. *Arch neurol* 1985; 42:606-13.20
41. Escobar MR, Dalton HP, Allison MJ. Fluorescent antibody test for syphilis using cerebrospinal fluid: clinical correlation in 150 cases. *Am J Clin Pathol* 1976; 53: 1368-90
42. Pirozzi DJ. Syphilis and penicilin. *Ann Intern med* 1973; 79:447-8
43. Davis LE, Schmidt JW. Clinical significance of cerebrospinal fluid tests for neurosyphilis. *Ann Neurol* 1989; 25:50-55
44. Moore JE and Hopkins HH. Asymptomatic neurosyphilis, V:I: the prognosis of early and late asymptomatic neurosyphilis. *JAMA*; 1930; 95:1637-41
45. Gourevitch MN, Selwyn PA, Davenny K et al. effect of HIV infection on the serologic manifestations and response to treatment of syphilis in intravenous drug users. *Ann Intern Med* 1993; 118:550-5
46. Radolf J, Kaplan RP. Unusual manifestation of secondary syphilis and abnormal immune humoral response to T pallidum antigens in a homosexual man with asymptomatic HIV infection. *Am Acad Derm* 1988; 18:423-8
47. Dawson S, Evans BA, Lawrence AG. Benign tertiary syphilis and HIV infection. *AIDS* 1988; 2:315-6
48. Kastner RJ, Malone JL, Decker CF. Syphilis osteitis in a patient with secondary syphilis and concurrent HIV infection. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 250-2
49. Don PC, Rubinstein R, Christie S. Malignant syphilis and concurrent infection with HIV. *Int J Dermatol* 1995; 34:403-7
50. Gregory N, Sanchez M, Buchness MR. The spectrum of syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:1061-7
51. Hutchinson CM, Hook EW III, Shpherd M, Verley J, Rompalo AM. Altered clinical presentation of early syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Ann Intern Med* 1994; 121:94-100
52. Rademacher SE, Radolf JD. Prominent osseous and unusual dermatologic manifestations of early syphilis in two patients with discordant serological statusesfor HIV infection. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 462-7

53. Johns DR, Tierney M, Felsenstein D. Alteration in the natural history of neurosyphilis by concurrent infection with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1987, 316:1569-72
54. Katz DA and Berger JR. Neurosyphilis in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch neurol* 1989; 46:895-8
55. Berger JR. Neurosyphilis in human immunodeficiency virus Type 1-seropositive individuals. *Arch neurol* 1991; 48: 700-2
56. Katz DA, Berger JR, Duncan RC. Neurosyphilis. A comparative study of the effects of infection with human immunodeficiency virus. *Arch Neurol* 1993; 50:243-9
57. Gordon SM, Eaton ME, George S, Lukehart S, Kuypers J, Marra C, Thompson S. The response of symptomatic neurosyphilis to high-dose intravenous penicillin G in patients with human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1994, 331:1469-73
58. Malone JL, Wallace MR, Hendrick B et al. Syphilis and neurosyphilis in a human immunodeficiency virus type-1 seropositive population: evidence for frequent serologic relapse after therapy. *Am J med* 1995; 99: 55-63
59. Rompalo AM, Cannon RO, Quinn TC, Hook EW III. Association of biologic false-positives reactions for syphilis with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1992; 165:1124-6
60. Rusnak JM, Butzin C, Mc Glasson D, Blatt SP. False-positive rapid plasma reagin in human immunodeficiency virus infection and relationship to anti-cardiolipin antibody and serum immunoglobulin levels. *JID* 1994; 169: 1356-9
61. Hicks CD, Benson PM, Lupton GP, Tramont EC. Seronegative secondary syphilis in a patient infected with the HIV with Kaposi's Sarcoma. *Ann Intern med* 1997; 107: 492-7
62. Tikjob G, Russel M, Petersen CS et al. Seronegative secondary syphilis in a patient with AIDS: identification of *Treponema Pallidum* in biopsy specimen. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 506-8
63. Mc Leish WM, Pulido JS, Holland S et al. The ocular manifestation of syphilis in the human immunodeficiency virus type-1 infected host. *Ophtalmology* 1990; 97: 196-203

64. Yinnon AM, Doniger-Coury P, Polito R, Reichman RC. Serologic response to treatment of syphilis in patients with HIV infection. *Arch Intern Med* 1996; 156:321-5
65. Haas JS, Bolan G, Larsen SA, Clement MJ, Bacchetti P, Moss AR. Sensitivity of treponemal tests for detecting prior treated syphilis during human immunodeficiency virus infection. *JID* 1990, 162:862-6;
66. Rompalo AM, Cannon RO, Quinn TC, Hook EW III. Association of biologic false-positive reactions for syphilis with human immunodeficiency virus infection. *JID* 1992; 165: 1124-6
67. Brandon WR, Boulos LM, Morse A. Determining the prevalence of neurosyphilis in cohort co-infected with HIV. *Intern J STD & AIDS* 1993, 4: 99-101
68. Holtom PD, Larsen RA, Leal ME, Leedom JM. Prevalence of neurosyphilis in human immunodeficiency virus-infected patients with latent syphilis. *Am J Med* 1992, 93:9-12
69. Esselink R, Enting R, Portegies P. Low frequency of neurosyphilis in HIV-infected individuals. *Lancet* 1993; 341: 571
70. Tomberlin MG, Holtom PD, Owens JL, Larsen RA. Evaluation of neurosyphilis in human immunodeficiency virus-infected individuals. *CID* 1994; 18: 288-94
71. Dowell Me, Ross PG, Musher DM, Cate TR, Baughn RE. Response of latent syphilis or neurosyphilis to ceftriaxone therapy in persons infected with human immunodeficiency virus. *Am J Med* 1992, 93: 481-8
72. Hook EW III. Diagnosing neurosyphilis. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 295-7
73. Barré-Sinoussi F. HIV as a cause of AIDS. *Lancet* 1996; 348: 31-5
74. Greene WC. The molecular biology of HIV type-1. *N Engl J med* 1991; 324: 308-17
75. Simonsen JN, Fowke KR, Mc Donald KS, Plummer FA. HIV pathogenesis: mechanisms of susceptibility and disease progression. *Curr Opin Microbiol* 1998; 1:423-9
76. Greene WC. AIDS and the immune system. *Sci Am* 1993; 9:67-73
77. Ahmad N, Venkatesan S. Nef protein of HIV-1 is a transcriptional factor repressor HIV-1 LTR. *Science* 1988; 241: 1481-5

78. Levy JA, Human immunodeficiency viruses and the pathogenesis of AIDS. *JAMA* 1989; 261: 2997-3006
79. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of HIV infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 327-35
80. Clark SL, Saag MS, Decker WE et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1991; 324: 959
81. Weiss RA. How does HIV cause AIDS? *Science* 1993; 260: 1273-9
82. Levy JA. Pathogenesis of HIV infection. *Microbiol Rev* 1993; 57: 187-289
83. Piatak MJ, Saag MS, Yang LC et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 1993; 259: 1749-54
84. Buchbinder SP, Katz MH, Hessel NA et al. Long term HIV-1 infection without immunologic progression. *AIDS* 1994; 8: 1123
85. Feinberg MB, Greene WC. Molecular insights into HIV type-1 pathogenesis. *Curr Opin Immunol* 1992; 4: 466-72
86. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD et al. Transient high levels of viremia in patients with primary HIV type-1 infection. *N Engl J Med* 1991; 324: 961-4
87. Busso M, Thornwaite J, Resnik L. HIV induced syncytium formation requires the formation of conjugates between virus-infected and uninfected T-cells in vitro. *AIDS* 1991; 5: 1425-32
88. Embretson J, Zupancic M, Ribas JL et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 1993; 362: 359-62
89. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. *Science* 1983; 220: 868
90. Schnittman SM, Psallidopoulos MC, Lane HC et al. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T-cell that maintains expression of CD4. *Science* 1989; 245:305-8
91. Mellors J, Munoz AM, Giorgi JV. Plasma viral load and CD4 lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997; 129: 946-54

92. Marschner IC, Collier AC, Coombs RW et al. Use of changes in plasma levels of HIV type-1 RNA to assess the clinical benefit of antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 1998; 177: 40-47
93. Bacellar H, Munoz A, Miller EN et al. Temporal trends in the incidence of HIV-1 related neurologic diseases: multicenter AIDS cohort study. *Neurology* 1985-1992. 1994; 44: 1892-1900
94. Lipton SA, Geldelman HE. Dementia associated with the AIDS. *N Engl J med* 1995; 332: 934-40
95. Simpson DM, Tagliati M. Neurologic manifestations of HIV infection. *Ann Intern med* 1994; 121: 769-85
96. Price RW, Worley JM. Management of neurologic complications of HIV-1 infection and AIDS. In Sande MA, Volberding PA: *The medical management of AIDS*. Philadelphia: WB Saunder, 1994
97. Marshall DW, Brey RL, Cahill WT. Spectrum of CSF in various stages of HIV infection. *Arc Neurol* 1988; 45: 954-8
98. Hollander H. CSF normalities and abnormalities in individuals with HIV JID 1988; 158:855-8
99. Budka H. Cerebral pathology in AIDS: a new nomenclature and pathogenic concepts. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1992; 5:917-23
100. Gulik, RM, Mellors JW, Havlir D et al. Treatment with indinavir, ziduvudine and lamivudine in adults with HIV infection and prior retroviral therapy. *N Engl J Med* 1997; 337: 734-9
101. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with HIV infection and CD4 cell counts of 2000 per cubic millimeter or less. *N Engl J Med* 1997; 337: 725-8
102. US Department of Health and Human Services. Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV infection. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. *MMWR* 1998; 47: 42-82
103. Patella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection. *N Engl J med* 1998; 338: 853-60

104. Hoggs RS, Heath KV, Yip B et al. Improved survival among HIV-infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 1998; 279: 450-4
105. Chiba M., Hensleigh M, Nishime JA, Balani SK, Lin JH. Role of cytochrome P450 3A4 in human metabolism of MK-639, a potent immunodeficiency virus protease inhibitor. *Drug Metab Dispos* 1996; 24:307-14
106. Hay PE et al. Use of PCR to detect DNA sequences specific to pathogenic treponemes in CSF. *FEMS Microbiol* 1990; 68:233-8
107. Burstein JM, Grimpel E, Lukehart S, Norgard MV, radolf JD. Sensitivity detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 62-9
108. Grimpel E, Sanchez PJ, Wendel GD et al. Use of the polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *T. pallidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sero and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1711-8
109. Noordhoek GT, Wolters EC, De Jonge MEJ, Van Embden JDA. Detection by polymerase chain reaction of *Treponema pallidum* DNA in cerebrospinal fluid from neurosyphilis patients before and after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1976-84
110. Sánchez PJ, Wendel GD Jr, Grimpel E et al. Evaluation of molecular methodologies and rabbit infectivity testing for the diagnosis of congenital syphilis and neonatal central nervous system invasion by *T. pallidum*. *JID* 1993; 167: 148-57
111. Centers for Disease Control: Update: acquired immunodeficiency syndrome in the United States, 1981-1988. *Morbidity Mortality Weekly Report* 1989, 38: 229-36
112. Mc Grew BE, Michael JF, Ducros BS, Stout GW, Falcone WH. Automation of a flocculation test for syphilis. *Am J Clin Pathol* 1968; 50: 52-9
113. Dyckman J, Storms S, Huber T. Reactivity of micro-hemagglutination, Fluorescent Treponemal Antibody Absorption and Venereal Disease Research Laboratory Tests in primary syphilis. *J Clin microbiol* 1980; 12: 629-90
114. Jaffe H, Larsen SA, Jones OG, Dans PE. Hemagglutination tests for syphilis antibody. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 230-3



115. Hsu P, Chamberlein NR, Orth K et al. Sequence analysis of the 47-kilodalton major integral membrane immunogen of *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 1989; 57: 196-203
116. Radolf JD. PCR detection of *Treponema pallidum*. In Persing DH, Smith TH, Tenover FC, White TJ. *Diagnostic molecular microbiology: Principles and Applications*. Mayo Foundation Rochester, MN. 1993.
117. Centers for Disease Control Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV infected patients. *MMWR* 1988; 37: 607-8
118. Hook EW III, Roddy RE, Lukehart SA, Hom J, Holmes KK, Tam MR. Detection of *Treponema pallidum* in lesion exudate with a pathogen-specific monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 241-4
119. Pulido-Ortega F, Rubio-García R, Salmerón-Béliz OJ et al. Reactividad de las pruebas serológicas para detectar sífilis en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin* 1993, 101: 365-7

## **7. Actividades y trabajos originados a partir del estudio de neurosífilis en pacientes con infección por VIH**

### **7.1.a. Beca FIS: Expediente 94/1315**

#### **Título: Valoración de la PCR en el diagnóstico y tratamiento de la neurosífilis en pacientes con infección por VIH**

Investigador principal: Martínez Vázquez, César

Colaboradores: Alvarez-Fernández, Maximiliano  
Bordón, José María  
De la Fuente Aguado, Javier  
Miralles Alvarez, Celia  
Sopena Pérez Argüelles, Bernardo

### **7.1.b. Publicaciones**

1. Bordón JM, Martínez Vázquez C, Alvarez M et al. Neurosyphilis and HIV-infected patients. *Europ J Microbiol & Infect Dis.* 1995; 14: 864-9
2. Bordón JM, Martínez-Vázquez C, de la Fuente Aguado J, Sopena B, Ocampo-Hermida A, Núñez-Torrón J, Rodríguez-Sousa T, Alvarez-Fernández M, del Blanco T. Response to standard syphilis treatment in HIV-infected patients. *Europ J Microbiol & Infect Dis.* 1999; 18: 729-31
3. Mc Lean S and Bordón J. False positive rapid plasma reagin tests and anticardiolipine antibodies. *JID* 1995; 172: 905

### **7.1.c. Presentaciones en Congresos**

1. Bordón JM, Martínez-Vázquez C, de la Fuente Aguado J, Sopena Pérez Argüelles B, Ocampo A. Prevalencia de la neurosífilis en pacientes con infección por VIH. Tercer Congreso Español de SIDA. Marzo 7-10 1995. La Comuna.
2. Bordón JM, Martínez-Vázquez C, Rodríguez-Sousa T, de la Fuente Aguado J, Sopena Pérez Argüelles B, Ocampo-Hermida A, Núñez-Torrón J. Evaluación de la respuesta al tratamiento mediante la detección de DNA de *T pallidum* en LR por la reacción de la cadena de polimerasa. Tercer Congreso Español de SIDA. Marzo 7-10 1995. La Comuna.

### **7.1.d. Revisor de Trabajos Originales**

Revista Médica Científica. EJE. Dordrecht, The Netherlands

Artículo: Assessment of prevalence of late active syphilis based on routine VDRL and TPHA results. Junio 1997.

### **7.1.e. Citaciones de nuestro trabajo en otras revistas científicas**

1. Mc Arthur JC and Harrison MJG. Cerebral infarction in AIDS: neurosyphilis. *Infect med* 1997; 14: 65-74
2. Sarria JC, Mushatt DM, martin DH. A 45-year-old man with seizures and meningitis. *Infect Med* 1999; 16(2): 84-88
3. Bolan G. Syphilis in HIV-infected hosts. In Cohen PT, Sande MA, Volberding PA. *The AIDS knowledge base*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998

## **8. Anexo 1**

## Neurosyphilis in HIV-Infected Patients

J. Bordón<sup>1\*</sup>, C. Martínez-Vázquez<sup>1</sup>, M. Álvarez<sup>2</sup>, C. Miralles<sup>1</sup>, A. Ocampo<sup>1</sup>,  
J. de la Fuente-Aguado<sup>1</sup>, B. Sopena-Perez Arguelles<sup>1</sup>

To determine the prevalence and the clinical and serological findings of neurosyphilis in HIV-infected patients, *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) tests, CD4+ lymphocyte counts and determination of rapid plasma reagin (RPR) titers were performed in 972 HIV-infected patients over a period of 3.5 years. Patients were scored according to the Centers for Disease Control's classification for HIV infection. Reactive serum syphilis tests and positive cerebrospinal fluid (CSF)-Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) tests, with or without clinical symptoms, were used as the criteria for diagnosis of neurosyphilis. The TPHA test was positive in 31 patients, representing 3.1 % of all HIV-infected patients included in the study. Of these, 13 were intravenous drug addicts, 14 were homosexuals and 4 were heterosexuals. Diagnosis of syphilis was concurrent with HIV infection in 19 patients, prior to HIV infection in 6 patients and after HIV infection in 6 patients. CSF examinations were performed in 28 of the 31 (90.3 %) patients with serologically evident syphilis. Four patients had positive CSF-VDRL tests with pleocytosis (23.5 % of untreated syphilis patients in whom CSF was examined), three of whom reported mild headache, which was considered a doubtful manifestation of neurosyphilis. Patients with syphilis diagnosed and treated prior to diagnosis of HIV infection did not have evidence of neurosyphilis. Seven patients had pleocytosis with a negative CSF-VDRL test, without any clinical manifestations of neurosyphilis. There was no significant difference in the mean CD4+ lymphocyte count between patients with and without neurosyphilis ( $p = 0.5$ ). RPR titers in neurosyphilis patients were greater than those in patients previously treated for syphilis and in those with pleocytosis only ( $p = 0.046$  and  $0.036$ , respectively). All neurosyphilis patients had an RPR titer  $> 1:8$ . After therapy, neurosyphilis patients had negative CSF-VDRL tests with a lower level of pleocytosis. The prevalence of neurosyphilis was 0.4 % in HIV-infected patients and 23.5 % in HIV-infected patients with untreated syphilis. This high prevalence of neurosyphilis warrants CSF examination in HIV-infected patients with syphilis, regardless of the stage of syphilis.

An increasing incidence of syphilis has been reported in western countries in recent years (1, 2). It has been reported that intravenous drug addicts have now become the group of HIV-infected patients most affected by syphilis (1, 3). Intravenous drug addicts constitute the largest group of patients within the HIV-infected population in Spain (4), and thus it is expected that the intravenous drug-addicted patients in our country will be simultaneously affected by syphilis and HIV infection. In patients with both HIV infection and syphilis, there have been several reports of seroreversion without specific therapy (5), atypical clinical presentation (6) and aggressive rapid

progression and failure to respond to recommended forms of syphilis therapy (1, 4, 5, 7). Therefore, today it is necessary to reevaluate syphilis in HIV-infected patients, given that immunological abnormalities caused by HIV infection recall situations such as those observed during the prepenicillin era (5).

The aim of this study was to evaluate the prevalence of neurosyphilis in HIV-infected patients and to compare serological and clinical syphilis findings according to whether syphilis was diagnosed before or after infection with HIV.

### Patients and Methods

**Patients.** All adult patients with HIV infection confirmed by both enzyme-linked immunosorbent assay and West-

<sup>1</sup>Infectious Diseases Unit, Internal Medicine Service, and  
<sup>2</sup>Microbiology Section, Hospital Xeral de Vigo, University of Santiago Compostela, c/Pizzarro 22, 36204 Vigo, Spain.

ent blot testing were included in the study, regardless of their risk for HIV infection or the evolving stages of HIV infection and syphilis. All the patients were asked about previous sexually transmitted diseases and syphilis tests. All were tested for syphilis by the serum rapid plasma reagin (RPR) test, the *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) test and CD4+ lymphocyte counts. Patients were scored according to the Centers for Disease Control's (CDC) classification for HIV infection at the beginning of the study (8). All the patients with positive serological treponemic tests were offered a cerebrospinal fluid (CSF) examination for glucose, protein and leukocytes, a Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test and a TPHA test. Prior to the CSF examination and considering clinical and serological syphilis findings, all patients were classified into different syphilis stages. After CSF examination all patients were treated according to the CDC recommendation for syphilis therapy (5). Those with a nonreactive CSF-VDRL test and pleocytosis were treated as neurosyphilis patients. The criteria for diagnosis of neurosyphilis were a reactive serum treponemic test, a reactive CSF-VDRL test and a positive CSF-TPHA test with or without clinical manifestations of neurosyphilis. Pleocytosis was defined as  $> 5$  leukocytes/ $\text{mm}^3$  CSF. CSF samples with  $> 5$  erythrocytes/ $\text{mm}^3$  were not included to avoid false-positive CSF-VDRL reactions. All CSF samples underwent a cytology study staining for acid-fast bacilli and cryptococcal antigen testing. In addition, routine cultures for bacteria, mycobacteria and fungi were performed. Patients diagnosed with neurosyphilis were monitored by means of clinical examinations and periodic nontreponemic and treponemic tests of blood and CSF samples.

**Setting.** The study was carried out in a large, university-affiliated hospital, which is a referral center for a population of 300,000 inhabitants and includes an infectious diseases unit.

**Statistical Analysis.** The basic population consisted of patients having both serologically evident syphilis and HIV infection. Patients in whom syphilis and HIV infection were diagnosed simultaneously formed group 1; patients in whom syphilis was diagnosed prior to the diagnosis of HIV infection formed group 2; and patients in whom syphilis was diagnosed after the diagnosis of HIV infection formed group 3. Patients from groups 1, 2 and 3 with  $> 5$  leukocytes/ $\text{mm}^3$  CSF and negative CSF-VDRL tests were duplicated to form an independent group. The following variables were examined: CD4+ lymphocytes, RPR, TPHA, CSF leukocytes, CSF protein, CSF glucose and CSF-VDRL values. Statistical analyses were performed with SPSS/PC V3 (SPSS Inc., USA) and with Kwikstat V3.3 (TexasSoft, USA). The Kruskal-Wallis method was used to make comparisons between all groups. Significance values presented were obtained using the SPSS/PC programme's Kruskal-Wallis technique.  $P < 0.05$  was considered significant.

## Results

A total of 972 HIV-infected patients, 741 males and 231 females, attending our center over 3.5

years from January 1991 to June 1994 were studied. Included were 714 intravenous drug addicts, 77 homosexuals or bisexuals, 134 heterosexuals, 41 previous blood transfusion recipients and 6 individuals with an unknown risk factor for HIV infection.

Five intravenous drug addicts had positive RPR tests but negative TPHA tests and were considered to have false-positive reactions for syphilis; their titers were 1:2, 1:2, 1:4, 1:32 and 1:1. Two of these patients reported supposed genital chancre and treatment for syphilis three and six years previously. Two other patients had received previous syphilis therapy, although they had no skin lesions. The remaining patient denied any skin lesions or earlier syphilis therapy. All of them had a negative RPR test in the next few months.

Thirty-one patients were considered as true positive for syphilis due to their reactive TPHA test, representing 3.1% of our HIV-infected population. None of them had received previous neurosyphilis therapy or CSF examination. Twenty-eight of the true-positive patients tested had reactive RPR tests, with geometric mean titers of 1:4.32, ranging from 1:1 to 1:32. Thirteen were intravenous drug addicts, 14 were homosexuals and 4 (3 men and 1 woman) were heterosexuals. There were 23 men (mean age  $39 \pm 12$  years) and 8 women (mean age  $28 \pm 4$  years) (7 intravenous drug addicts and 1 heterosexual) included. The mean CD4+ lymphocyte count was  $487/\text{mm}^3 \pm 303$ . According to the CDC classification for HIV infection, 15, 6, 8 and 2 patients corresponded to stages A2, B1, B2 and C3, respectively.

Nineteen patients were diagnosed as having concurrent syphilis and HIV infection (group 1) (Table 1). Three of them had genital chancre and the rest were considered to have latent syphilis, although it was impossible to differentiate between early or late latent syphilis. None of the patients in group 1 had received previous syphilis therapy. The mean CD4+ lymphocyte count of those not having a reactive CSF-VDRL test was  $530/\text{mm}^3 \pm 289$ . One of the patients with genital chancre had a negative RPR test. In the remaining patients the geometric RPR mean titer was 1:4.21, ranging from 1:1 to 1:32.

In 6 of the 31 patients with syphilis, the syphilis was contracted before HIV infection was diagnosed, and all 6 had received previous syphilis therapy (group 2) (Table 1). Four of them had had genital chancre. The syphilis was considered cured in all of them at the time HIV infection was diagnosed. In all of these patients, syphilis ther-

apy consisted of i.m. penicillin G benzathine  $2.4 \times 10^6$  U, once weekly at least three times during the previous two to eight years. The four positive RPR titers were 1:4, 1:4, 1:4 and 1:2. The geometric mean titer was 1:3.363. The mean CD4+ lymphocyte count was  $313/\text{mm}^3 \pm 214$ , with individual values of 457, 28, 380, 624, 191 and  $199/\text{mm}^3$ .

In six patients syphilis was diagnosed after HIV infection was diagnosed (group 3) (Table 1). The time from HIV infection diagnosis to syphilis diagnosis ranged from five months to five years. One patient in whom an earlier serological test for syphilis was negative reported headache, and new tests for syphilis were found to be positive. Syphilis tests for the remaining five patients in group 3 were carried out when the patients attended our center for the first time, even though clinical manifestations of syphilis were absent. The geometric mean RPR titer was 1:13.04, positive individual values being 1:32, 1:32, 1:32, 1:1, 1:32 and 1:4. The mean CD4+ lymphocyte count was  $386/\text{mm}^3 \pm 288$ , with individual values being 895, 448, 532, 319, 60 and  $62/\text{mm}^3$ .

CSF examination was performed in all patients except two in group 1 and one in group 2 who refused the CSF examination. Two patients in group 1 and two in group 3 but none in group 2

who had been considered to have latent syphilis were diagnosed with neurosyphilis, based on positive CSF-VDRL tests. Three of them were intravenous drug addicts and the other was a homosexual. The CSF findings and CD4+ lymphocyte counts are shown in Table 2. Two patients in group 1 and another in group 3 reported continuous, mild headache but no other clinical manifestations of neurosyphilis. Adenosine deaminase activity, cryptococcal antigen testing, staining for acid-fast bacilli and cultures for *Mycobacterium tuberculosis* and *Cryptococcus neoformans* were negative. The seric RPR titers were 1:8 in one patient and 1:32 in the others. According to the CDC classification, two patients corresponded to group A1 and two to group B1. Besides our neurosyphilis patients, seven syphilis patients had pleocytosis, with a mean leukocyte count of  $11/\text{mm}^3 \pm 6$ . Five belonged to group 1, one to group 2 and one to group 3. The mean CD4+ lymphocyte count in these patients was  $528 \pm 198$ , and the geometric mean RPR titer was 1:2.70, with titers ranging from 1:1 to 1:32. Syphilis patients were followed-up for a mean time of 13.5 months; none showed any clinical manifestations of neurosyphilis.

All patients with neurosyphilis received i.v. penicillin G  $24 \times 10^6$  U per day for 14 days as recom-

**Table 1:** Clinical and laboratory findings in 31 patients with syphilis and HIV infection.

Clinical and laboratory findings	Group 1 <sup>a</sup> (n=19)	Group 2 <sup>b</sup> (n=6)	Group 3 <sup>c</sup> (n=6)	Neurosyphilis patients (n=4)
No. with primary syphilis	3			
No. with latent syphilis	16		6	4
No. apparently cured		6		
Mean geometric RPR titer	1:5.293	1:3.363	1:13.04	1:23.10
Mean CD4+ cells/ $\text{mm}^3 \pm$ SD	530 $\pm$ 289	313 $\pm$ 214	386 $\pm$ 288	694 $\pm$ 354
No. with pleocytosis	5	1	1	4

<sup>a</sup>Syphilis concurrent with HIV infection.

<sup>b</sup>Syphilis acquired before HIV infection.

<sup>c</sup>Syphilis acquired after HIV infection.

RPR: rapid plasma reagin.

**Table 2:** Cerebrospinal fluid findings and other features of four patients diagnosed with neurosyphilis.

Group no.	Sex (n)	RPR titer		CSF-VDRL titer		CSF leukocytes/ $\text{mm}^3$		CD4+ cells/ $\text{mm}^3$ <sup>1</sup>	CDC/HIV classification
		Initial	Control	Initial	Control	Initial	Control		
1	Male (1)	1:32	1:8	1:4	(-)	14	7	1,031	B1
1	Female (1)	1:8	(-)	1:8	(-)	55	12	481	A2
3	Female (1)	1:32	1:4	1:8	(-)	24	16	895	B1
3	Female* (1)	1:32		1:4		16		319	A2

\*Refused CSF control after therapy.

RPR: rapid plasma reagin.

mended (5), which resulted in an apparent improvement of headache. The CSF examination showed a negative VDRL test, persistent but lower pleocytosis and nonreactive or lower RPR titers in the three neurosyphilis patients examined one and two years after therapy, while the fourth neurosyphilis patient refused a later CSF exam (Table 2). None of the four neurosyphilis patients showed any clinical or neurological manifestations after treatment. All patients with neurosyphilis had RPR titers of  $> 1:8$ . There was no significant difference in the RPR titers of patients with versus those without neurosyphilis ( $p = 0.066$ ). However, RPR titers of neurosyphilis patients differed from those of group 2 and patients with pleocytosis ( $p = 0.046$  and  $0.036$ , respectively). The patients with pleocytosis and negative VDRL tests had greater serum RPR titers than those of patients without pleocytosis ( $p = 0.023$ ). There was no significant difference in the mean CD4+ lymphocyte count of patients with versus those without neurosyphilis ( $p = 0.5$ ).

#### Discussion

Despite an increasing incidence of syphilis in recent decades, there have been few advances in diagnosis of this disease. Serology remains the main means of diagnosing syphilis (1, 5), but the serologic tests available are of limited value. Furthermore, concomitant HIV infection hampers the diagnosis and management of syphilis (5, 9, 10).

We found five patients (0.51 %) with positive RPR titers and negative TPHA tests. Very probably, two of them had had a previous genital chancre, yet we were unable to confirm or exclude syphilis in these patients. We found a lower percentage of biologic false-positive RPR titers compared to that reported in other studies (11, 12). All of our patients with biologic false-positive RPR tests were drug addicts. The biologic false-positive serum reagin tests have been traditionally associated with intravenous drug-addicted patients (12); however, other authors have not found such associations (11, 13). Likewise, biologic false-positive RPR was generally found in low and transient titers, such as those seen in our patients (13). Given the low rate of false-positive RPR tests in HIV-infected patients with syphilis, we consider the RPR test a useful serological screening test for syphilis.

We found only four studies of syphilis in HIV-infected populations, all carried out in western countries since the HIV pandemic began. Preva-

lences of syphilis ranged from 4.9 % to 43.9 % (12, 14–16). Brandon et al. (14) found a prevalence of 32 % in HIV-infected patients, most of whom were homosexuals. This prevalence data is biased, since it was obtained from a sexually transmitted disease clinic. We found a lower prevalence of syphilis in HIV-infected patients (3.1 %), with or without previous syphilis therapy, than others (13–16). Our low prevalence of syphilis in HIV-infected patients might be attributable to the small percentage of homosexuals in our HIV-infected population. Although "safe sex" measures have decreased the incidence of syphilis in homosexual patients since the HIV pandemic began (17), the incidence of syphilis in our HIV-infected homosexuals was higher because more than 50 % of our study population was homosexual. This finding was also reported in another study performed in Spain (13) and could be related to the lack of information and preventive measures available to our homosexual patients. In view of the high prevalence of syphilis in HIV-infected patients and considering syphilis as an additional risk factor for HIV transmission, it is highly recommended that serological tests for syphilis be performed in the HIV-infected population and HIV tests in the syphilis-infected population.

The presence of *Treponema pallidum* in the central nervous system has been described in all stages of syphilis (5, 9), independent of CSF-VDRL reactivity (9). It is furthermore recognized that penicillin G benzathine does not reach bactericidal levels in the CSF ( $< 0.1 \mu\text{g/ml}$ ) (5, 18). Nonetheless, of the six patients in group 2 who had been treated with penicillin G benzathine, none developed neurosyphilis. A similar finding was also reported in HIV-negative patients with syphilis (1, 5). In addition, the efficacy of penicillin G benzathine in our group 2 patients differentiates them from patients who acquired syphilis concurrently or after HIV infection, in whom syphilis therapy with either penicillin G benzathine or i.v. G penicillin failed (19).

The prevalence of neurosyphilis in HIV-infected patients with syphilis was found to be greater than that found in non-HIV-infected patients with syphilis (5, 6, 16). In our study, four (23.5 %) of the untreated syphilis patients examined had neurosyphilis by positive CSF-VDRL tests, and three of them had mild headache as a doubtful clinical manifestation of neurosyphilis. The limited neurological clinical manifestations of neurosyphilis in our patients are in contrast to findings described by others (15, 18). The prevalence of



latent neurosyphilis was higher in our study than that found in other neurosyphilis prevalence studies, such as those carried out by Holtom et al. (9.1 %) (15) and Brandon et al. (3.1 %) (14), but this might be attributable to our performing a CSF examination in 90.3 % of our syphilis patients. Therefore, in an HIV-infected patient with serologically evident syphilis but without apparent symptoms, diagnostic testing for neurosyphilis, including a CSF examination, is recommended. Higher RPR titers in HIV-infected patients with neurosyphilis have also been reported (7, 15, 20). In our study all patients with neurosyphilis had RPR titers of  $> 1:8$ . Consequently, neurosyphilis should be suspected in any patient with high RPR titers.

HIV infection decreases the immune response to syphilis, allowing the persistence of *Treponema pallidum* in the CNS (5) even in the presence of a nonreactive CSF-VDRL test (9). Furthermore, an absence of correlation between the incidence of neurosyphilis and low CD4+ lymphocyte counts was also reported (15, 19). We found a substantially preserved CD4+ lymphocyte count in patients with reactive CSF-VDRL tests; thus, in our patients with reactive CSF-VDRL tests, other unknown factors must be involved in the invasion of the central nervous system by *Treponema pallidum*.

HIV-negative patients with pleocytosis and serologically evident latent syphilis are assumed to have neurosyphilis (5). Our patients with neurosyphilis showed significantly high levels of leukocytes in the CSF ( $p < 0.002$ ), but this nonspecific finding was present in seven patients with negative CSF-VDRL tests. Since pleocytosis in HIV-infected patients can be caused by different infectious agents and by HIV itself, the single finding of pleocytosis is not useful in HIV-infected patients compared to non-HIV-infected patients. HIV-infected patients with serologically evident syphilis and pleocytosis must be considered to have neurosyphilis and thus must be treated for neurosyphilis (5, 15, 21). CSF-VDRL seroreversion and persistent but lower pleocytosis in the three neurosyphilis patients examined were observed after i.v. penicillin therapy, findings which indicate the unspecificity of pleocytosis in these patients.

The low sensitivity of the CSF-VDR test is only partially resolved by other diagnostic tests such as the polymerase chain reaction, TPHA index and rabbit infectivity tests (8, 20), although any one of these is today considered a definitive test for neu-

rosyphilis. Due to the low sensitivity of the VDRL test for the diagnosis of neurosyphilis (1, 5), we could not rule out neurosyphilis in our patients with serologically evident syphilis and negative CSF-VDRL tests, nor could we exclude it in the patients who refused the CSF examination. In light of these problems, we feel that standard neurosyphilis therapy may be an appropriate approach for all HIV-infected patients, regardless of the stage of syphilis.

#### Acknowledgements

The authors thank Anthony Rostron, B. Sc. (hons.), and Prof. Sumner K. McLean for their cooperation in this research. This work was supported by grant no. 94/1315 of the FIS (Fondo de Investigaciones Sanitarias) from the Ministerio de Salud y Consumo.

#### References

1. Hook EW, Maza CM: Acquired syphilis in adults. *New England Journal of Medicine* 1982, 10: 1000-1009.
2. Centers for Disease Control: Tertiary syphilis death - South Florida. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1987, 36: 488-491.
3. Centers for Disease Control: Relationship of syphilis to drug use and prostitution - Connecticut and Philadelphia, Pennsylvania. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1988, 37: 755-758.
4. Estébanez P, Flich K, Nájera R: La prueba del VIH en el marco de la salud pública. *SIDA* 1993, 4: 207-211.
5. Musher DM, Hamill RJ, Baughn RE: Effect of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the course of syphilis and on the response to treatment. *Annals of Internal Medicine* 1990, 113: 672-681.
6. Jones DR, Timsay N, Felsenstein D: Alteration in the natural history of neurosyphilis by concurrent infection with the human immunodeficiency virus. *New England Journal of Medicine* 1987, 316: 1569-1572.
7. Centers for Disease Control: Revised classification for HIV infection and expanded and surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1993, 41: 1-47.
8. Gordon SM, Estre MF, George R, Larsen S, Lukehart S, Kuypers J, Maza C, Thompson S: The response of symptomatic neurosyphilis to high-dose intravenous penicillin G in patients with human immunodeficiency virus. *New England Journal of Medicine* 1994, 331: 1469-1473.
9. Lukehart SA, Hook EW, Baker-Zander SA, Collier AC, Drachow DW, Handsfield HH: Invasion of the central nervous system by *Treponema pallidum*: implications for diagnosis and treatment. *Annals of Internal Medicine* 1988, 109: 855-862.
10. Haas JS, Bolan G, Larsen SA, Clement MU, Bacchetti P, Moss AR: Sensitivity of treponemal tests for detecting prior treated syphilis during human immunodeficiency virus infection. *Journal of Infectious Diseases* 1990, 162: 862-866.

11. Rongato AM, Cannon RC, Quim TC, Hook EW: Association of biologic false-positive reactions for syphilis with human immunodeficiency virus infection. *Journal of Infectious Diseases* 1992, 165: 1124-1126.
12. Ruzick JM, Butzin C, McGlasson D, Blatt SP: False-positive rapid plasma reagin in human immunodeficiency virus infection and relationship to anti-cardiolipin antibody and serum immunoglobulin levels. *Journal of Infectious Diseases* 1994, 169: 1358-1359.
13. Pardo-Olvera F, Rubio-García R, Salasón-Beltrán DJ, Cuatrecasas Castellano V, Carnevali-Ruiz D, Casas-Pérez-Herrero JR, del Palacio-Madal A: Reactividad de las pruebas serológicas para detectar sífilis en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Medicina Clínica* 1993, 101: 305-307.
14. Brandes WR, Boulos LM, Morse A: Determining the prevalence of neurosyphilis in a cohort co-infected with HIV. *International Journal of STD and AIDS* 1993, 4: 99-101.
15. Holton PD, Larsen RA, Leaf ME, Leedom JM: Prevalence of neurosyphilis in human immunodeficiency virus-infected patients with latent syphilis. *American Journal of Medicine* 1992, 93: 9-12.
16. Katz DA, Beiger JR, Duncan RG: Neurosyphilis. A comparative study of the effects of infection with immunodeficiency virus. *Archives of Neurology* 1990, 50: 243-249.
17. Centers for Disease Control Update: acquired immunodeficiency syndrome in the United States, 1981-1988. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1989, 38: 229-236.
18. Dowse ME, Ross PG, Musher DM, Cato TR, Baughn RE: Response of latent syphilis or neurosyphilis to ceftriaxone therapy in persons infected with human immunodeficiency virus. *American Journal of Medicine* 1992, 93: 481-488.
19. Malone JL, Wallace MR, Hendrick BB, LaRocco A, Tono E, Brodine SK, Bowler WA, Lavis BS, Hawkins RE, Oldfield EC: Syphilis and neurosyphilis in a human immunodeficiency virus type-1 seropositive population: evidence for frequent serologic relapse after therapy. *American Journal of Medicine* 1995, 99: 55-63.
20. Tomberlin MG, Holton PD, Owens JL, Larsen RA: Evaluation of neurosyphilis in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clinical Infectious Diseases* 1994, 18: 289-294.
21. Musher DM: Syphilis, neurosyphilis, penicillin and AIDS. *Journal of Infectious Diseases* 1991, 163: 1201-1208.

that direct microscopy should be done on all sputum samples, current experience definitely warrants the use of PCR as a highly sensitive and specific tool for the rapid diagnosis of tuberculosis.

Håkan Malmgren and Ulf Sjöberg

*Armarer Hansen Research Institute, Addis Ababa, Ethiopia; Department of Medical Microbiology University of Lund, Lund, Sweden*

#### References

1. Alghamdi B, Ströman. Diagnosis of tuberculosis: can the polymerase chain reaction replace acid-fast bacilli smear and culture? [letter]. *J Infect Dis* 1995;171:960-4.
2. Savol B, Sjöberg U, Ahgqvist S, Laitinen L, Malmgren H. Evaluation of polymerase chain reaction, isonicotinic acid analysis, and direct microscopy for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum. *J Infect Dis* 1992;166:1177-80.
3. Blaszczak KS, Siffler MD, Cove MD, Bates JE, Crawford JT. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples using a polymerase chain reaction. *Am Rev Resp Dis* 1991;144:1168-71.
4. Clumidge JE III, Shawe RM, Shinnick TM, Plikaytis BB. Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a routine mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol* 1992;31:2049-58.
5. David HL. The bacteriology of mycobacterium. Washington, DC: US Government Printing Office, 1976.
6. Yoon L, Ross R, Jackson K, Dwyer B. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from Vietnamese patients by Southern blot hybridization. *J Clin Microbiol* 1993;31:1665-8.
7. Malmgren H, Gebre N, Karlsson U, et al. Diagnosis of pulmonary tuberculosis [letter]. *Lancet* 1994;344:1171.

#### False-Positive Rapid Plasma Reagin Tests and Anti-Cardiolipin Antibodies

To the Editor—Recent articles [1, 2] have discussed false-positive syphilis test results in the presence of human immunodeficiency virus (HIV) infection. We suggest that such investigations must consider the influence of IgG anti-cardiolipin antibodies on biologic false-positive results. We have analyzed some of the data shown by Ruzak et al. [2] in table 1. By use of the Newman-Keuls multiple comparisons analysis of variance with the Kwikstat 3.3 computer program, we found that the IgG anti-cardiolipin antibody levels of the true negatives were significantly ( $P < .001$ ) lower than for the false positives and true positives. HIV-1 and neurosyphilis are disorders associated with anti-phospholipid in sera and cerebrospinal fluid, respectively [3]. Thus, higher levels of IgG anti-cardiolipin antibodies in an HIV-infected subject may be responsible for a false-positive nontreponemal test result.

Reprints in correspondence: José Borrás, Internal Medicine Service, Hospital General de Vigo, Santiago de Compostela University, Finestra 22, 36204 Vigo, Spain.

*The Journal of Infectious Diseases* 1995;172:903  
© 1995 by The University of Chicago. All rights reserved.  
0950-2688/95/070903-03\$03.00

Table 1. Comparison of anti-cardiolipin antibody levels and FTA-ABS and RPR results (from [2]).

Group, FTA-ABS result/ RPR results (n)	IgG anti-cardiolipin antibody level, phospholipid units (n)
Biologic false-positives (9)	30 ± 2 (9)
True positives (98)	32 ± 7 (77)
Treated and resolved (150)	25 ± 4 (48)
True negatives (820)	23 ± 8 (262)

Sumner K. MacLenn and José Borrás

*Internal Medicine Service, Hospital General de Vigo, Santiago de Compostela University, Vigo, Spain*

#### References

1. Anagnostou MS, Delfozza JA, Feldman J, et al. Biological false-positive syphilis test results for women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994;19:1040-4.
2. Ruzak JM, Borras C, McGlasson D, Blatt SP. False-positive rapid plasma reagin tests in human immunodeficiency virus infection and relationship to anti-cardiolipin antibody and serum immunoglobulin levels. *J Infect Dis* 1994;169:1356-9.
3. Calle F, Siveri S, Ferrero AM, et al. Cerebrovascular and neurological disorders associated with antiphospholipid antibodies. *J Neurol Sci* 1994;122:97-101.

## Note

## Response to Standard Syphilis Treatment in Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus

J. Bordón, C. Martínez-Vázquez, J. de la Fuente-Aguado, B. Sopena, A. Ocampo-Hermida, J. Nuñez-Torrón, T. Rodríguez-Sousa, M. Alvarez-Fernandez, T. del Blanco

**Abstract** In a study designed to evaluate the efficacy of penicillin in HIV-infected patients with syphilis and to determine the clinical and laboratory responses after treatment, 13 patients with HIV infection and syphilis were assessed at enrollment and at the last follow-up examination (median time of 21 months). The Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) test, the *Treponema pallidum* hemagglutination test, and leukocyte counts in cerebrospinal fluid were evaluated both at enrollment and at the last follow-up visit, and the polymerase chain reaction for *Treponema pallidum* DNA and the rabbit infectivity test were performed on cerebrospinal fluid samples at the last follow-up visit. Primary syphilis was confirmed in four patients, latent syphilis in five, and neurosyphilis in four. After penicillin treatment, all patients were asymptomatic. The serum rapid plasma reagin test became negative in five patients, and titers declined in eight. The VDRL test, *Treponema pallidum* DNA, and the rabbit infectivity test were negative in all 13 patients. Except for one patient whose serological titer was slow to decline, all patients had good clinical and serological responses to penicillin. In certain settings, factors other than penicillin treatment failure should be considered in HIV-infected patients with suspected relapse of syphilis.

**Introduction**

In recent years penicillin treatment failures have been reported in HIV-infected patients with syphilis [1–6]. Severe immunosuppression and unproven reinfection in HIV-infected patients were considered as possible causes of syphilis relapse [2–8]. Penicillin treatment for syphilis in patients with and without HIV infection has been evaluated in a recent randomized, double-blind study [9]. A weak serological response was found in HIV-infected patients, but clinical failure was uncommon in both groups of patients [9].

The assessment of treatment of neurosyphilis in HIV-infected patients is controversial. Current tests to assess the treatment of neurosyphilis were reported to be suboptimal [1, 2]. The Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) test in cerebrospinal fluid (CSF) has a low sensitivity, but it remains the standard test for diagnosis of neurosyphilis. High immunoglobulin production rates and pleocytosis, both frequent findings in HIV-infected patients, limit the evaluation of syphilis treatment. More recently, the polymerase chain reaction (PCR) for *Treponema pallidum* DNA was reported to be a promising test for the diagnosis of neurosyphilis [1].

The purpose of this study was to evaluate the efficacy of penicillin treatment in HIV-infected patients with syphilis and to evaluate the clinical and laboratory responses after the end of therapy.

**Patients and Methods**

In all patients included in the study, HIV infection was confirmed by enzyme immunoassay and Western blot testing. Syphilis was diagnosed in all patients after or at the same time HIV infection was diagnosed.

Clinical examination and serological tests for syphilis (rapid plasma reagin [RPR] test and *Treponema pallidum* hemagglutina-

J. Bordón, C. Martínez-Vázquez, J. de la Fuente-Aguado, B. Sopena, A. Ocampo-Hermida, J. Nuñez-Torrón  
Unit of Infectious Diseases, Hospital Xeral of Vigo,  
University of Santiago de Compostela, Vigo, Spain

T. Rodríguez-Sousa  
Research Laboratory and Section of Microbiology,  
Hospital Xeral of Vigo, University of Santiago de Compostela,  
Vigo, Spain

M. Alvarez-Fernández, T. del Blanco  
Section of Microbiology, Hospital Xeral of Vigo,  
University of Santiago de Compostela, Vigo, Spain

J. Bordón (✉)  
Department of Medicine, Providence Hospital,  
1150 Varnum Street NE, Washington DC 20017, USA  
e-mail: www.jbordn@netconnect.net

tion [TPHA]) were performed at enrollment and during the follow-up period. Clinical and laboratory evaluations were performed in all patients every 3 months for the first year and then every 6 months. CSF studies, including the Venereal Diseases Research (VDRL) test and leukocyte counts, were done at enrollment and at the last evaluation. PCR for *Treponema pallidum* DNA and the rabbit infectivity test (RIT) were performed in CSF samples at the last evaluation. HIV infection and syphilis were scored according to the Centers for Disease Control and Prevention's classification system [10, 11]. At enrollment, patients were treated with penicillin according to the stage of disease.

The PCR to detect *Treponema pallidum* DNA in CSF samples was performed in all patients. CSF samples were stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  within 60 min after lumbar punctures. A 658 bp fragment of the gene encoding the 47 kDa *Treponema pallidum* membrane lipoprotein immunogen was amplified [12]. PCR cycles were performed in a thermocycler (Gene ATO Controller, Pharmacia, USA). Plasmid pH 47.2 [12] was kindly provided by M. Norgard, Microbiology Department, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA, and lyophilized *Treponema pallidum* obtained from BioMérieux, France, was used as positive control. The PCR product was analyzed by electrophoresis and dot blot DNA-DNA hybridization with an internal 496 bp probe [13], using primers 47-3 and 47-4 [13] labeled with DIG-11-dUTP by random priming (DIG DNA Labeling Kit; Boehringer Mannheim, USA). Hybrid identification was carried out by enzyme immunoassay with the chemiluminescence substrate CSPD (DIG Luminescent Detection Kit; Boehringer Mannheim, Germany).

Sensitivity of the assay was determined by using serially diluted, purified *Treponema pallidum* chromosomal DNA [13]. Based on the average *Treponema pallidum* chromosomal size [13], approximately 0.1 pg or the DNA equivalent of ten treponemes was detected following amplification. Positive PCR results were obtained from a suspension of whole *Treponema pallidum* calculated to contain ten microorganisms.

The RIT was performed on CSF samples following published methodology [14, 15]. A serological result negative for syphilis was confirmed in all adult male New Zealand white rabbits. CSF samples were thawed within 60–90 min and inoculated a few minutes later. A 1 ml CSF sample was injected intratesticularly in each rabbit. The rabbits were housed in a single cage at  $20^{\circ}\text{C}$  and fed antibiotic-free food. Each rabbit was examined 2 weeks after inoculation and then weekly for orchitis. Three months after inoculation, the RPR test TPHA and testicular biopsy were performed in all rabbits. Testicular biopsies were homogenized

and examined by the direct immunofluorescence test for *Treponema pallidum* with the conjugated antibody to *Treponema pallidum*-FICT (supplied by Biogenesis UK) [16].

## Results and Discussion

Thirteen patients were enrolled in the study (8 males and 5 females; average age 32 years). Risk factors for HIV infection were homosexuality in four patients, drug abuse in seven and multiple sexual partners in two. Primary syphilis was present in four patients, latent syphilis in five and neurosyphilis in four. The VDRL test in CSF was positive in three patients. At presentation these three patients had no other neurological symptoms other than headache. In patient no. 13, the diagnosis of neurosyphilis was based on an unexplained persistent headache, high RPR titers and pleocytosis (Table 1). In this patient a comprehensive series of tests for opportunistic diseases was negative. The four patients with neurosyphilis were treated with  $24 \times 10^6$  U of i.v. penicillin for 14 days. Of the patients with primary and latent syphilis (Table 1), eight were treated with benzathine penicillin  $2.4 \times 10^6$  U three times weekly and one with procaine penicillin  $2.4 \times 10^6$  U i.m. daily for 14 days. The main laboratory findings in the 13 patients at enrollment are shown in Table 2. At follow-up, all patients were asymptomatic. The last follow-up evaluation was performed a median of 21 months after the end of treatment. Main laboratory results are shown in Table 2.

In our study penicillin was an effective treatment for syphilis in HIV-infected patients without severe immunosuppression. After treatment, all our patients were asymptomatic, and the RPR test became negative or declined in titers. During follow-up, patient no. 4 showed a slow decline in the serum RPR titer, but CSF tests were negative. Rolf et al. [9] reported no clinical relapse after penicillin treatment in a large, randomized

**Table 1.** Stages and laboratory results at enrollment

Patient no.	Syphilis stage	Serum RPR titer	CSF leukocyte count (cells/mm <sup>3</sup> )	CSF VDRL titer	HIV classification*	CD4+ count (cells/mm <sup>3</sup> )
1	primary	1/32	ND	ND	A1	650
2	primary	1/16	3	0	A1	837
3	primary	1/8	ND	ND	A2	315
4	primary	1/16	ND	ND	A3	123
5	latent	1/16	3	0	A1	699
6	latent	1/32	1	0	A1	480
7	latent	1/16	3	0	C3	140
8	latent	1/32	2	0	A1	615
9	latent	1/32	2	0	A1	500
10	neurosyphilis	1/32	14	1/4	A1	1081
11	neurosyphilis	1/32	24	1/8	A1	1100
12	neurosyphilis	1/8	55	1/8	A2	481
13	neurosyphilis	1/64	16	0	B2	396

\* Revised CDC classification system and expanded AIDS surveillance definition for adolescents and adults [10]. RPR, rapid plasma reagin; CSF, cerebrospinal fluid; VDRL, Venereal Diseases Research Laboratory; ND, not done.